



# **Effekter av två olika hösilagefoderstater på tarmfloran och träcksammansättningen hos häst och gris**

Effects of two different haylagediets on intestinal biota and fecal  
composition of horses and pigs

av

**Sara Ringmark**

---

Institutionen för husdjurens  
utfodring och vård

**Examensarbete 263**

Swedish University of Agricultural Sciences  
Department of Animal Nutrition and Management

---

**Uppsala 2008**





# **Effekter av två olika hösilagefoderstater på tarmfloran och träcksammansättningen hos häst och gris**

Effects of two different haylagediets on intestinal biota and faecal composition of horses and pigs

av

**Sara Ringmark**

**Handledare: Anna Jansson, Inst. för husdjurens utfodring och vård  
Jan Erik Lindberg, Inst. för husdjurens utfodring och vård  
Stefan Roos, Inst. för mikrobiologi  
Hans Jonsson, Inst. för mikrobiologi**

---

**Institutionen för husdjurens  
utfodring och vård**

**Examensarbete 263**

**Swedish University of Agricultural Sciences  
Department of Animal Nutrition and Management**

**Uppsala 2008**

---



## **Förord**

Jag vill rikta ett varmt tack till alla som varit involverade i och hjälpt mig med detta examensarbete. Speciellt tack till mina handledare Anna Jansson, Jan Erik Lindberg, Stefan Roos och Hans Jonsson för all tid och framförallt inspirationen ni gett mig. Tack också Johan Dicksved för värdefull hjälp med bearbetningen av resultat, Börje Ericson för hjälp vid analyser och foderberedning, Anna-Greta Haglund för handledning vid analyser, Magdalena Höök Presto för praktisk hjälp med försöksupplägg samt övrig personal vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård och Institutionen för mikrobiologi för hjälp och vänligt bemötande.

Uppsala 2008-06-19  
Sara Ringmark



# INNEHÅLLSFÖRTECKNING

<b>Förord</b>	<b>5</b>
<b>Innehållsförteckning</b>	<b>7</b>
<b>Sammanfattning</b>	<b>9</b>
<b>Abstract</b>	<b>10</b>
<b>Inledning</b>	<b>11</b>
<b>Litteraturstudie</b>	<b>11</b>
Fodernedbrytning hos enkelmagade djur	11
Mikrobiell digestion	12
Utfodringens verkan på fekalt pH-värde	14
Vanliga vallväxter	15
<b>Material och metod</b>	<b>15</b>
Dieter	16
Häststudie	18
<i>Djurmaterial</i>	18
<i>Försöksdesign, foder och utfodring</i>	18
<i>Uppsamling av träck och foderrester</i>	19
Grisstudie	19
<i>Djurmaterial</i>	19
<i>Försöksdesign, foder och utfodring</i>	19
<i>Uppsamling av träck, digesta och foderrester</i>	20
Analyser	20
<i>pH</i>	20
<i>Ts-bestämning</i>	20
<i>T-RFLP</i>	20
Statistisk bearbetning	22
<b>Resultat</b>	<b>22</b>
Häststudie	22
<i>Foderintag</i>	23
<i>pH-värde i träck- och tarmprover</i>	23
<i>Torrsubstanshalt i träck</i>	23
Grisstudie	24
<i>Foderintag</i>	24
<i>pH-värde i träck och tarmprover</i>	24
<i>Torrsubstanshalt i träck</i>	24
Mikrobiologiska analyser	24
<i>T-RFLP profiler</i>	25
<i>Möjliga arter</i>	27

<b>Diskussion</b>	<b>27</b>
Foderkonsumtion & fodermedel	27
Fekala pH-värden	28
Ts-halter i träcken	29
Mikrobiologisk profil	30
<b>Litteraturförteckning</b>	<b>31</b>
<b>Bilaga A</b>	<b>34</b>
<b>Bilaga B</b>	<b>35</b>
<b>Bilaga C</b>	<b>37</b>



## Sammanfattning

Syftet med studien var att ta reda på om hösilagets botaniska sammansättning påverkar tarmmiljön hos häst och gris. Dessutom var syftet att jämföra de olika djurslagens reaktioner på fodermedlen. För att ta reda på detta utfördes två separata studier med grisar och hästar, som utfodrades med samma hösilage, samt en litteraturstudie. Hösilagen som användes i studien var ett slåttervallshösilage, främst bestående av timotej och ängssvingel, och ett betesvallshösilage som hade stor inblandning av maskros, kvickrot samt en del örter. Hösilagen hade likvärdiga ts-halter, 71 % resp. 73 % och pH-värde 5,7.

I häststudien ingick 7 hästar av rasen Svensk Varmblodig Travhäst som i en switch-back studie under tre perioder först utfodrades med en foderstat dominerad av slåttervallshösilaget under 1 vecka (period I), sedan med betesvallshösilaget under 2 veckor (period II) och sedan bytte tillbaka till foderstaten med slåttervallshösilaget under 1 vecka (period III). Före studiens början hade hästarna utfodrats med slåttervallshösilaget under 3 veckor. Under period I och III utfodrades även 18 % havre, 13 % betför, 9 % lusern pellets, 7 % soja och 2 % foderjäst av totala ts intaget för att justera energi och proteinnivåerna så att foderstaterna blev mer likvärdiga näringsmässigt. Träckprover samlades under varje period vid totalt fyra tillfällen; period I dag 3-5, period II dag 7-9 samt dag 14-16 och under period III dag 7-9.

Grisstudien utfördes som en change-over studie med 4 kastrerade, ileumfistulerade, hangrisar av rasen Yorkshire. Studien pågick under 4 veckor och foderbyte skedde efter halva tiden. Förutom de två hösilagen utfodrades djuren med en blandning av majsstärkelse, socker, kasein och olja. Träckprover samlades dag 8-11 i varje period. Tarmprover samlades dag 9, 12 och 14 under varje period där prover från dag 12 och 14 slogs samman.

Foderstaten med betesvallshösilaget visade sig ge ett signifikant högre pH-värde i träcken hos både grisar och hästar. Hos hästarna var pH-värdet vid slåttervallsfoderstaten i genomsnitt under period I  $6,45 \pm 0,23$  och under period III  $6,55 \pm 0,25$ . På betesvallsfoderstaten (period II dag 8) var istället genomsnittsvärdet  $6,75 \pm 0,23$  och under period II dag 16 var det  $6,61 \pm 0,22$ . I träcken från grisarna var det genomsnittliga pH-värdet vid utfodring med slåttervallshösilaget  $5,79 \pm 0,14$  mot  $6,26 \pm 0,36$  vid utfodring med betesvallshösilaget. Inga effekter av foder kunde ses på pH-värdet i tarmproverna. Ts-halten i träcken från hästarna var signifikant ( $P < 0,05$ ) lägre vid utfodring med betesvallshösilaget ( $19,5 \pm 0,6$  % resp.  $20,6 \pm 1,6$  %) under de båda mättillfällena under period II än vid utfodring med slåttervallshösilaget ( $25 \pm 0,9$  % under period I och  $23,4 \pm 4,7$  % i period III). Även i träckproverna från gris kunde en numerisk skillnad ses (slåttervallshösilaget  $31,0 \pm 3,9$  % ts och betesvallshösilaget,  $26,6 \pm 1,4$  % ts) men den var inte signifikant.

För att se om olika mikrobiella populationer gynnades, alternativt hämmades av någon av foderstaterna undersöktes den mikrobiologiska sammansättningen i träck- och tarmprover med Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism (T-RFLP) metodik. Detta visade på signifikanta ( $P < 0,05$ ) skillnader mellan foder i fem av de detekterade bakteriegrupperna från häst och en av de detekterade bakteriegrupperna från tarmproverna på gris.

Slutsatsen från den här studien är att foderstaten med betesvallshösilaget ökade det fekala pH-värdet hos både häst och gris och minskade ts-halten i träcken, hos gris dock bara numeriskt. Även delar av de mikrobiologiska populationerna påverkades av de olika dieterna. Hästar och grisar svarade lika på de båda fodren med höjda fekala pH-värden och sänkt ts-halt i träck vid utfodring med hösilage från en betesvall jämfört med hösilage från en slåttervall.

## Abstract

The aim of this study was to investigate if the botanical composition of haylage affects pH, dry matter content and microbial composition of the faeces in horse and pig and ileal environment in pigs. Two separate studies were conducted where pigs and horses were fed two diets containing haylages with different botanical composition. The first haylage was from a tilled land dominated by timothy and meadow fescue and the other haylage came from a meadowland with a large inclusion of dandelion, 25 % and common couch. The dry matter content (70.8 % and 73.0 % respectively) and the pH-value (5.7) were similar in both feeds.

The first study was made as a three-periods switch-back study with 7 Standardbred horses. In the first and the third period, 7 and 9 days long respectively, the diet consisted of the haylage from the tilled land, oats, sugar beet pulp, soy bean oil meal, lucerne pellets and brewers yeast. The second period, which lasted for 16 days, the horses were fed the meadowland haylage and a small amount of sugar beet pulp. Faeces were collected once in the first and the third period and twice in the second period, three days at the time.

The second study was conducted with four castrated ileum fistulated Yorkshire pigs and made up as a change-over study in two periods. The pigs were fed haylage together with a mix of maize starch, sugar, casein and rapeseed oil for two weeks with each haylage. The pigs were fitted with a Post Valve T Caecum cannula and samples were collected on day 9, 12 & 14 in each period. Samples of faeces were collected on day 8-11 in each period.

The faecal pH-value was significantly ( $P < 0.05$ ) higher when horses and pigs were fed diets containing the meadowland haylage (pH 5.79 on haylage from tilled land and 6.26 on meadowland haylage). The dry matter content of the horse faeces were significantly ( $P < 0.05$ ) lower on the meadow land haylage (19.5-20.6 %) the second period than on the haylage from the tilled land period I (25 %). No effects of pH-value could be observed in the caecum samples from the pigs.

The microbial populations of the faeces and digesta were investigated with Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism methodology. Five of the bacterial groups detected in the horse faeces differed significantly ( $P < 0.05$ ) between periods and one of the bacterial groups from the pig digesta samples differed with diet.

## Inledning

Både hästar och grisar är enkelmagade djur och kan i olika utsträckning smälta fibrer som cellulosa och hemicellulosa med hjälp av mikrober i grovtarmen. Grisen är omnivor och kan till skillnad från hästen inte enbart näringsförsörja sig på fiberrikt foder som till exempel gräs utan behöver även tillgång på lättsmälta kolhydrater som stärkelse för sin energiförsörjning. Hästen däremot är anpassad till att kunna klara sig på fiberrika växtdelar för sitt näringsupptag. Den har med sin mycket stora grovtarm möjlighet till lång retentionstid för svårsmälta fiberdelar.

En lämplig miljö i grovtarmen är hos häst viktig för att undvika sjukdomar som fång och kolik. Hästar med lös träck upplevs också som ett relativt vanligt problem som kan ha många orsaker. Tänkbara orsaker kan t ex vara ett högt proteinintag (Connysson *et al.*, 2006), fodrets hygieniska kvalitet eller fibermängden eftersom fibrer har en vattenhållande förmåga. Variationer i proteininnehåll och fibermängd uppstår i naturen beroende på årstid, botaniskt utvecklingsstadium och väder. Inverkan av höga protein- och fiberintag på tarmfunktionen kan därför sägas vara normal eller naturlig. Vid lagring av foder kan mögelangrepp och andra mikrobiologiska processer försämra foderhygien. Att äta sådant foder är inget som domesticerade djur kan förväntas ha hunnit anpassa sig till och sådant foder ger alltså en onormal tarmpåverkan. pH-värdet i caecum och colon har använts för att uppskatta hälsan i mag- och tarmsystemet hos en rad olika djur (Berg *et al.*, 2005). Fekala pH-värdet har hos råtta, gris och människa även använts för att spegla funktionen i colon. Det finns få studier om hur olika fibertyper och växter påverkar träck och tarmflora hos häst jämfört med hos gris och framförallt hos människa där det finns mer kunskap.

Syftet med den här studien var att ta reda på om foderstater med olika botanisk sammansättning på grovfodret kan ge några skillnader i tarmmiljön och träcken hos häst och gris samt undersöka om samma foder ger liknande effekter hos de båda djurslagen.

## Litteraturstudie

### Fodernedbrytning hos enkelmagade djur

De två djurslagen som behandlas i det här arbetet, gris och häst, är båda klassificerade som enkelmagade men med olika möjligheter att bryta ner fibrer. Hästen är en utpräglad gräsätare med stor grovtarmsvolym och hög mikrobiell aktivitet och är därmed anpassad till att utvinna större delen av sin näring från foder innehållande en stor andel svårlösliga fibrer. Grisen däremot är omnivor med mer begränsad möjlighet till fibernedbrytning. Dock har det uppskattats att växande grisar i intervallet 70-110 kg kan få 40 % grovfoder på energibasis förutsatt att det är från en tidigt skördad vall med högt energiinnehåll och låg fiberandel (Lindberg, personligt meddelande, 2007-05-18). Suggor kan t.ex. täcka 50 % av sitt underhållsbehov med bete.

Det som främst skiljer hästens magsäck från grisens är den cardiala delen som hos gris är mycket stor och hos häst helt saknas. Grisens magsäck fungerar till stor del som lagringsplats och fodret uppehåller sig ofta där under lång tid innan det portioneras ut till tunntarmen. Hästen har istället en förhållandevis liten magsäck och fodrets uppehållstid där är kort. I

magsaften finns saltsyra som tar död på bakterier som följer med fodret och pepsin som bryter ned proteiner.

I tunntarmen sker nedbrytning och absorption av lättlösliga kolhydrater, proteiner och fett. Stärkelse är en kolhydrat sammanlänkad med  $\alpha$ -glykosidbindningar och bryts ner av enzymet amylas som finns i bukspottsäften. Hästen har betydligt lägre amylaskoncentration i bukspottsäften än gris och därför sämre förmåga att bryta ner stora mängder stärkelse i tunntarmen (Kienzle *et al.*, 1994; Sjaastad *et al.*, 2003). De komponenter som inte kunnat brytas ner och absorberas blir substrat för mikroorganismerna i grovtarmen att växa på. I grovtarmen sker en mikrobiell nedbrytning av svårlösliga fibrer som resulterar i kortkedjiga fettsyror. Dessutom sker ett upptag av vatten, joner, mm.

Cellulosa och hemicellulosa hålls ihop av  $\beta$ -glykosidbindningar vilka kräver mikrobiella enzym för att kunna brytas (Frape, 2004). Därför sker ingen nedbrytning av cellulosa i tunntarmen utan först i grovtarmen där mikroberna verkar. Grovfoder innehåller stora mängder cellulosa och hemicellulosa och är svårt att bryta ner fullständigt även för utpräglade gräsätare som nötkreatur och hästar. Mikroberna i grovtarmen kan utnyttja de kolhydrater som finns i växtmaterialet till olika grad beroende på andelen lignin som varken djurets egna eller de mikrobiella enzymen kan bryta ner. Bakterierna producerar under sin tillväxt för hästen essentiella aminosyror, kortkedjiga även kallade flyktiga fettsyror (VFA) samt vitaminer i B- och K-komplexen. Fermenteringen och VFA-absorptionen i grovtarmen underlättas av bikarbonat och natrium från ileum, som har en buffrande effekt, samt den anaeroba miljön. Fiberdigestionen resulterar främst i acetat och butyrat medan propionatnivåerna stiger vid ökad andel stärkelse som undkommit nedbrytning i tunntarmen. För VFA absorption och även för mikrobiell aktivitet är pH 6,5 optimalt. Absorptionen av VFA åtföljs av absorption av natrium och med det vatten. VFA transporteras snabbare genom mucosan i tarmväggen hos gris än häst (Argenzio & Southworth, 1974). Den fermentativa aktiviteten i grovtarmen hos gris har därför troligtvis ett betydande inflytande över energimetabolismen i djuret. Imoto & Namioka (1978) kunde visa att 10 % av energin kommer från grovtarmen hos grisar.

Temperaturen i lumen är nära djurets kroppstemperatur och pH ligger mellan 6,5 och 7,5 beroende på diet (Hume, 1996). Bakteriefloren i grovtarmen är vanligtvis stabil och består av flera hundra anaeroba bakteriearter som samexisterar. Diversiteten ökar med en ökad tillgång till begränsande näringsämnen som behövs som substrat. Antalet av en viss bakterieart i hästens grovtarm kan skilja så mycket som 100 gånger inom samma dygn beroende på tillgängliga näringsämnen, speciellt stärkelse och protein, och som en följd av det påverkas även pH-värdet (Julliand *et al.*, 2001).

## Mikrobiell digestion

Det mikrobiologiska ekosystemet i mag- och tarmkanalen hos däggdjur är mycket komplext. Oftast finns det minst 400 olika arter och i grovtarmen hittar man ungefär  $10^{12}$  levande mikrober per gram tarminnehåll (Castillo *et al.*, 2007). Faktorer som påverkar mikrobiopopulationens sammansättning är främst tillgången på fästpunkter i mucosan, möjligheten att växa på foder och endogena substanser, pH-tolerans,  $E_h$ -tolerans ( $E_h$  = red-ox potential, förmåga att ta upp och avge elektroner), resistens mot gallsalter och resistens mot toxiner från till exempel växter samt eventuell antibiotika i djurens foder (Stewart, 1996). En variation i pH-värdet finns mellan de olika avdelningarna i mag- och tarmsystemet och påverkas av djurens utfodring och ålder. I senare delen av tunntarmen har man uppmätt

värden mellan 6,0 och 7,9 (Jonsson & Conway, 1992).  $E_h$ -potentialen är högst i de första avdelningarna och minskar ju närmare rektum man kommer. Allteftersom  $E_h$ -potentialen minskar ökar antalet anaeroba bakterier. Även om många anaeroba bakteriearter har påträffats är miljön i matsmältningskanalen aldrig helt anaerob. Detta gör att man också finner många organismer som kan hantera eller på något sätt använda syre. Olika bakterier använder sig av olika vägar och substrat för att producera samma fettsyra, framförallt acetat, butyrat eller propionat (Louis *et al.*, 2007) och en del av de producerade syrorna utnyttjas av andra bakterier för att producera nya fettsyror. Tarmfloran kan anpassa sig till olika dieter både genom att bakterierna ändrar sin aktivitet och genom att floran får en annan sammansättning.

Skillnader mellan populationsprofiler har kunnat påvisas mellan i) kullsyskon (cecala skillnader) ii) populationer i caecum och colon från samma gris iii) populationer i lumen jämfört med populationer i mucosan (Allison *et al.*, 1977).

Terminal restriction fragment length polymorphism (T-RFLP) som ger en profil på bakteriefloran baserat på skillnader i 16s rRNA generna hos olika arter har kunnat bidra mycket till att öka kunskapen om populationsdynamiken i de olika delarna av mag-tarmsystemet hos gris (Castillo *et al.*, 2007). Castillo *et al.* (2007) kunde med hjälp av RFLP-teknik konstatera att den mikrobiella tarmfloran kunde påverkas genom användandet av olika fiberkällor som substrat till bakterierna. Näringsämnen som undgår nedbrytning i de övre delarna av matsmältningskanalen är bakteriernas främsta näringskälla. Främst är det komplexa växtkolhydrater som används, t.ex. lösliga och icke lösliga stärkelsefria kolhydrater (NSP) och resistent stärkelse (RS). En förändring i antalet bakteriearter i tarmfloran hos gris vid olika fiberkällor syntets som olika antal band då fyra olika restriktionsenzym användes. De djur som utfodrades med vetekli hade RFLP-mönster som var mer lika varandras jämfört med dem som utfodrades med sockerbetor och kontrollfodret innehållande majs, korn och soja. Detta beror troligtvis på att vetekli är så svårfermenterat att det kräver en specialiserad bakteriepopulation. Fermenteringen blir mer proteolytisk då det finns mindre kolhydratkällor i grovtarmen. Vid utfodring med vetekli och sockerbetor ökade bland annat antalet *Ruminococcus*-relaterade organismer. Dessa bakterier är specialiserade på att bryta ner fibrer och är ofta cellulolytiska t.ex. *R. flavefaciens*.

Laktobaciller, streptokocker och laktat-utnyttjande bakterier har man hittat i hela hästens mag-tarmsystem (De Formbelle *et al.*, 2003). Flest fann man i magsäcken och tunntarmen där de påverkade digestionen av lättfermenterade kolhydrater. Mycket av den mjölksyra som bildas i magsäcken absorberas aldrig i tunntarmen utan metaboliseras av bakterierna i grovtarmen till propionat (Frape, 2004).

Både cecala bakterier och protozoer verkar bäst vid pH 5-6 då de bryter ner pektiner och hemicellulosa (Bonhomme-Floretin, 1988). Hos hästar som är anpassade till en diet baserad på spannmål kan de cecala bakterierna inte bryta ner hö lika effektivt som hos hästar anpassade till att äta mycket hö och vice versa (Julliand *et al.*, 2001).

Man har vid de flesta studier av mikrofloran i gristräck hittat laktobaciller, koliforma bakterier samt streptokocker (Stewart, 1996). Bland de anaerober man funnit har ca 90 % varit Gram-positiva och även strikta anaerober som klostridier, eubakterier och bifidobakterier har dokumenterats. Den vanligaste arten man hittar i gristräck är streptokocker (ca 25 %). Man har sett många likheter mellan strikta anaerober i våmmen och i grisens mag-tarmsystem. Till exempel är arter som *Fibrobacter succinogenes*, *Ruminococcus flavefaciens* och cellulolytiska klostridier, beskrivna som dominant förekommande i våmmen, även isolerade från gris. En

annan viktig bakterieart i våmmen, *Ruminococcus albus*, har däremot inte kunnat påvisas hos gris.

En häst har 70 % upptagningskapacitet av VFA genom grovtarmsväggen jämfört med vad kon kan ta upp genom våmväggen (Argenzio & Southworth, 1974). Grovtarmen är hästens huvudsakliga ställe för mikrobiell proteinsyntes och digestion av fibrer (neutral detergent fibre, NDF). Man har kunnat konstatera att *E. coli*, streptokocker och laktobaciller är vanliga bakterier hos alla hästar och i hela digestionskanalen (Stewart, 1996). Barnes (1986) kunde även hitta bakterieoider och klostridier hos en del djur. Bakterieoiderna kunde däremot inte påvisas i magsäcken och tunntarmen utan bara i caecum och i träcken. Om man jämför mikrobiopopulationerna hos hästar och grisar har hästar en mindre andel livskraftiga bakterier i träcken än grisar. Hos gris är de vanligaste grupperna bakterieoider, laktobaciller, peptostreptokocker, anaeroba skruvade stavar, bifidobakterier och spirocheter. Hos hästar hittar man däremot mest bifidobakterier, streptokocker och anaeroba skruvade stavar. Störst andel anaeroba bakterier hittar man i caecum (Barnes, 1986).

Moore *et al.* (1987) utförde en studie på grisar där man kunde konstatera att mikrobiopopulationen skilde sig signifikant vid hög andel fibrer i fodret jämfört med dieter baserade på majsolja och korn. I en annan studie ökade andelen cellolytiska bakterier i träcken då grisarna utfodrades med 96 % lusermjöl (Varel & Pound, 1985), mest *Fibrobacter (Bacterioides) succinogenes* men även *Ruminococcus flavefaciens*.

### Utfodringens inverkan på fekalt pH-värde

Det fekala pH-värdet varierar beroende på djurens foder (Medina *et al.*, 2002; Berg *et al.*, 2005) och därför är detta användbart då man vill undersöka eventuella skillnader mellan foder. Hos råttor har man kunnat se en korrelation mellan det cekala och fekala pH-värdet (Campbell *et al.*, 1997). Det fekala pH-värdet var då konstant högre än det cekala.

Berg *et al.* (2005) fann att det fekala pH-värdet ökade då de utfodrade hästar med fruktooligosackarider (FOS). Dessa är polysackarider hoplänkade med  $\beta$ -glykosidbindningar som inte kan brytas ner av enzymer från däggdjur. Hästarna hade fri tillgång till ett bete med hundäxing och fick dessutom ett koncentrat som till största delen innehöll havre, korn och soja, i en mängd motsvarande 1 % av kroppsvikten. När hästarna utfodrades med extra FOS ökade VFA produktionen och pH-värdet sjönk därmed. Även mängden mjölksyra ökade. VFA-produktionen med FOS som substrat varierar mellan djurarter, troligtvis på grund av deras olika mikroflora i grovtarmen (Berg *et al.*, 2005).

Sänkta pH-värden i caecum och colon har observerats då man i en studie av Medina *et al.* (2002) utfodrade hästar med en stor stärkelsemängd jämfört med hästar som istället hade en hög andel fibrer i sin foderstat. I colon var pH-värdet 7,14 hos de hästar som hade en hög andel fibrer i foderstaten och 6,79 hos de hästar som istället utfodrades med en stor mängd stärkelse. I caecum var motsvarande siffror 7,15 resp. 6,85. Samtidigt sågs en ökning av laktobaciller och streptokocker i både caecum och colon.

Shriver *et al.* (2003) använde sig i ett försök av olika fiberkällor till gris för att se om det gav någon effekt på utnyttjandet av aminosyror. Som fiberkällor användes skal från sojabönor och torkade sockerbetor. Ingen av fiberkällorna påverkade pH-värdet i gödseln. Även Castillo *et*

al. (2007) använde olika fiberkällor i sina försök med grisar (vetekli och sockerbetor). De såg inte heller någon skillnad i pH-värde i proximala colon mellan de olika fodren.

Studier på häst (Connysson *et al.*, 2006) har visat att utfodring med ensilage med högt proteininnehåll påverkar pH-värdet i träcken. Två foderstater med bara grovfoder med olika proteininnehåll jämfördes under 23 dagar vardera på varmblodiga travhästar i träning. Det ena var ett ensilage med 16,6 % råprotein (rp) och det andra var ett ensilage med 12,5 % rp. När hästarna fodrades med det första hösilaget fick de en proteingiva som motsvarade 160 % av behovet jämfört med den andra foderstaten där proteingivan var det rekommenderade intaget. Vid den höga proteingivan var pH-värdet i träcken  $6,11 \pm 0,02$  vilket var signifikant lägre än vid den rekommenderade proteingivan,  $6,27 \pm 0,02$ . Det proteinrika hösilaget var gödslat med mera kväve och kan därför antas ha en högre bladandel. Detta gör hösilaget mer lättfermenterat och prover som tagits från colon på fistulerade hästar har visat på en högre mängd VFA vid utfodring med det proteinrikare hösilaget. En annan intressant observation som gjordes i studien var att vattenmängden i träcken ökade vid utfodring med det proteinrikare hösilaget

### Vanliga vallväxter

Timotej, ängsvingel och engelskt rajgräs är vanliga vallväxter som länge använts för produktion av hästfoder, främst på grund av deras goda odlingsegenskaper, smaklighet och näringsinnehåll. Dessa går bra att ensilera på grund av sitt höga sockerinnehåll. Då de ska torkas till hö skördas de ofta i ett sent utvecklingsstadium.

Maskros, *Taraxacum* är ett mycket vanligt förekommande ogräs i svenska vallar och andelen hästar som utfodras med maskros är därför troligtvis stor. Maskrosen har, enligt Strandhede (2002), lätt urindrivande egenskaper och kan ge upphov till hudallergi vid intensiv kontakt med mjölksaften. De urindrivande egenskaperna kommer av dess höga innehåll av kalialter (Rydén, 1990). I en studie från Nya Zeeland (Harrington *et al.*, 2006) analyserades bland annat maskros i betesmarker och näringsvärdena jämfördes med övervintrande rajgräs och vitklöver. Jämfört med dessa hade maskros högre innehåll av zink, koppar, bor, magnesium, fosfor och natrium. Innehållet av aska, ADF och protein skilde sig inte signifikant.

Maskros innehåller bitterämnen som är kända för att stimulera digestionen (Gurib-Fakim, 2006) och fenoliska substanser som har en anti-inflammatorisk och anti-oxidativ effekt.

Ett annat vanligt förekommande ogräs i ogödslade vallar är smörblomma, *Ranunculus acris*. Växtsaften hos arter inom släktet är starkt hud och slemhinneirriterande genom bildningen av protoanemonin. Giftigheten varierar mellan arter, populationer och årstid men giftet bryts ner då växten torkas till hö eller ensileras (Strandhede, 2002).

Syftet med studien var att ta reda på om olika botanisk sammansättning i grovfoder kan ge skillnader i tarmmiljö och träck hos häst och gris samt undersöka om samma foder ger liknande effekter hos båda djurslagen.

### Material och metoder

Två studier utfördes. Häststudien var upplagd som en switch-back studie som bygger på att man startar och avslutar med samma diet för att lättare kunna koppla de eventuella effekter man ser till behandlingen och inte till förändringar över tiden. Grisstudien var istället upplagd som en change-over studie där varje individ jämförs med sig själv. I det här fallet, där två hösilage användes utfodrades hälften av djuren med varje foder under period 1 och bytte sedan foder inför period 2 så att båda fodren användes under båda perioderna. Att jämföra varje individ på det här sättet minimerar residualvariansen och gör det lättare att jämföra behandlingarna.

## Dieter

Två hösilage användes, båda var torra (över 70 % ts), hade pH-värde 5,7 och var likvärdiga med avseende på mikrobiell tillväxt (tabell 1). Det ena var ett slåttervallshösilage från en gödslad vall som främst bestod av timotej och ängssvingel medan det andra var från en gödslad (65 kg kväve per ha) betesvall och hade stor inblandning av maskros och kvickrot. Betesvallshösilaget hade lägre innehåll av NDF, ADF och lignin och högre proteininnehåll än slåttervallshösilaget (tabell 2). Dessutom skilde innehållet av mineraler sig åt en del (tabell 3) då betesvallhösilaget generellt var mer mineralrikt.

**Tabell 1.** Hygienisk analys av hösilagen

	Slåttervallshösilage	Betesvallshösilage
pH	5,7	5,7
Jästsvamp kvantifiering (cfu/g)	log 3,5	log 2
Mögelsvamp kvantifiering (cfu/g)	< log 2,0	<log 2,0
<i>Enterobacteriaceae</i>	< log 1,0	<log 1,0
Klostridiumsporer, kvantifiering (cfu/g)	< log 2,0	<log 2,0
Mögelflora vid direktodling 25°C	0-växt	0-växt
Termofila svampar vid direktodling, 37°C	Mkt sparsam växt av övrig mögelsvamp	0-växt

För analys av den hygieniska kvaliteten skickades prover in till Statens Veterinärmedicinska Anstalts laboratorium. Båda hösilagen var konserverade som storbalar inplastade med vit plast.

Foderprover samlades från de balar som utfodrades under uppsamlingsperioderna. Ett representativt prov togs ut för analys av ts, aska, råprotein, vattenlösliga kolhydrater (WSC), neutral detergent fibre (NDF), acid detergent fibre (ADF), lignin, råfett (EG-fett), stärkelse, våmlöslig organisk substans (VOS) och omsättbar energi (ME). De analyserades på SLUs forskningslaboratorium på Kungsängen i Uppsala när studien hade avslutats (tabell 2). Före analysen blandades de olika kraftfoderkomponenterna samman i de proportioner som hästarna utfodrades och ett delprov togs ut.

**Tabell 2.** Näringsvärden i de båda hösilagen från den analys som fanns att tillgå före studiens början samt från de foderprover som uttogs under studiens gång



	Ts, %	Aska % av ts	RP % av ts	WSC % av ts	NDF % av ts	ADF % av ts	Lignin % av ts	EG- fett % av ts	VOS % av ts	Stärk- else % av ts	MJ ME för hästar
Slåttervallshösilage före studien	69,0	6,6	8,9		63,8	36,0	6,5		73,0		9,1
Betesvallshösilage vid inplastning	75,7	8,2	14,3						86,6		11,2
Slåttervallshösilage per I	70,8	6,3	8,6	9,7	60,8	38,1	7,3		73,0		9,1
Slåttervallshösilage per III	72,1	6,8	7,8	12,3	57,1	35,2	6,0		76,3		9,7
Betesvallshösilage per II	73,8	7,9	13,5	9,6	47,8	30,7	5,2		86,2		11,2
Kraftfoder per I	90,3	6,1	19,2	10,7	24,7	17,0	3,8	3,1		16,4	
Kraftfoder per III	90,0	6,0	19,5	9,3	23,7	16,2	3,4	3,4		21,3	

**Tabell 3.** Innehåll av mineralämnena kalcium (Ca), fosfor (P), magnesium (Mg), kalium (K), natrium (Na) och svavel (S) i hösilagen enligt analyserna som gjordes före studiens början (g/kg ts)

	Ca	P	Mg	K	Na	S
Slåttervallshösilage	3,7	2,4	0,7	24,9	< 0,1	1,5
Betesvallshösilage	7,2	2,3	2,3	26,1	0,27	2,5

För mer exakt beskrivning av de båda hösilagens sammansättning lämnades ett prov in för botanisk analys till Annika Hansson, laboratorietekniker på Institutionen för markvetenskap, SLU. Resultatet för betesvallshösilaget finns i tabell 4. Slåttervallshösilaget hade förutom timotej och ängssvingel även inslag av maskros och kvickrot. Provet som användes från slåttervallshösilaget var taget ur hösilagebalen i samband med utfodring och ensilerat, därmed något svåranalyserat. Av betesvallshösilaget användes ett prov som var taget direkt i fält och sedan hade förvarats fryst vid -20°C. Provet utgjordes av stickprov från var 10:e meter diagonalt över hela fältet.

**Tabell 4.** Botanisk sammansättning i betesvallshösilaget

Art	Andel i %
Maskros	25,00
Ängssvingel	21,51
Rajgräs	17,42
Timotej	14,03
Kvickrot	14,01
Vitklöver	3,53
Gröe	2,88
Groblad	0,67
Revsmörblomma	0,67
Övriga okända ogräs	0,65
Lomme	0,08

Det hösilage som utfodrades till grisarna hackades i ca 3 cm långa bitar och förvarades sedan i förslutna plastpåsar vid + 4°C i 7-10 dagar före utfodring. Prov från dessa uttogs för ts-

bestämning av det som ingick i grisarnas dieter. För att få foderstater till hästarna med så lika näringsinnehåll som möjligt under de tre perioderna användes havre, soja, betför, jäst, lucernpellets samt en del mineraler som komplement. Näringsvärdena för kraftfodren skattades med hjälp av tabeller i boken *Utfodringsrekommendationer för häst* (Jansson, 2004). För hösilagen användes de analyser som fanns sedan skörden för foderstatsberäkning (tabell 2). I grisstudien var det endast hösilagen som skiljde de båda dieterna åt.

## Häststudie

### *Djurmaterial*

För studien användes 7 valacker av rasen Svensk Varmblodig Travhäst, 5-8 år gamla med en genomsnittlig vikt på  $515 \pm 57$  kg. Sex av hästarna tränades regelbundet under hela försöket. De kördes i genomsnitt 9 gånger under försöksperioden i ett tempo som gav en puls 5 minuter efter avslutat arbete på  $86 \pm 11$  slag per minut. Före försökets start hade hästarna stått på en foderstat baserad på slåttvallshösilaget i 3 veckor. De dagar då ingen uppsamling av träck skedde vistades hästarna ute dagtid i en mycket glest bevuxen hage (bild 1). Som strömedel i boxarna användes kutterspån.



**Bild 1.** Marken i hagen där hästarna vistades 6-8 timmar per dag. Vinkelmåttet är 15 cm.

### *Försöksdesign, foder och utfodring*

Studien med hästarna delades in i tre perioder. Under period I och III användes slåttvallsfoderstaten (SF) som bestod av slåttvallshösilaget, lucern, havre, sojamjöl, betför, bryggerijäst samt tillskott av mineralämnena NaCl, Ca och Mg (tabell 5). Hästarna utfodrades tre gånger per dygn, kl. 07:00, 12:30 och kl. 17:00.

**Tabell 5.** Ingående mängder av de fodermedel som användes under period I & III, kg foder. Den största hästen (häst 7) utfodrades med 20 % mer av samtliga fodermedel för att bibehålla kroppsvikten

<i>Slåttvallshösilage</i>	<i>Havre</i>	<i>Lucern</i>	<i>Betför</i>	<i>Sojamjöl</i>	<i>Jäst</i>	<i>Foderkalk</i>	<i>Biomag<sup>†</sup></i>	<i>NaCl</i>
10,5	2	1	1,5	0,75	0,25	40 g	30 g	25 g

<sup>†</sup>Magnesiumfosfat från Biofarmab, Sverige

**Tabell 6.** Ingående fodermedel under period II, kg foder. Den största hästen (häst 7) utfodrades med 20 % mer av samtliga fodermedel för att bibehålla kroppsvikten

<i>Betesvallshösilage</i>	<i>Betfor</i>	<i>Fosforbalans<sup>2</sup></i>	<i>NaCl</i>
13	0,100	40 g	33 g

<sup>2</sup>Mononatriumfosfat från Biofarmab, Sverige

Under period II användes betesvallsfoderstaten (BF) som utgjordes av betesvallshösilaget, betfor, fosfortillskott och NaCl (tabell 6). Dagsgivan delades upp på tre utfodringar vid samma tider som i period I och III. Då byte till nytt foder skedde i varje periods början skedde detta gradvis med ½ fodergivan de två första dagarna och hela den nya fodergivan dag 3 i varje period. Fullständiga foderstatsberäkningar och näringsvärden för foderstaterna under de tre perioderna samt övergångsfoderstaterna finns i bilaga A.

#### *Uppsamling av träck och foderrester*

Färska träckprover samlades under tre på varandra följande dagar. I period I dag 3-5, period II dag 7-9 samt dag 14-16 och under period III dag 7-9. Proverna förvarades vid -20°C i förslutna plastpåsar. Dagen före träckuppsamling samt de dagar då uppsamlingen ägde rum hölls hästarna inne. Andra dagen under varje uppsamlingsperiod samlades prover för mikrobiologisk analys. Dessa förvarades vid -80°C. Under denna dag togs även prov från 3 färska träckhögar per häst för mätning av pH-värdet. De foderrester som hästarna lämnade dagen innan och under träcksamlingsdagarna samlades in och vägdes.

## **Grisstudie**

#### *Djurmaterial*

Fyra kastrerade hangrisar från samma kull, ca 5 månader gamla av rasen Yorkshire användes i försöket. Grisarnas genomsnittliga vikt under försöksperioden var 99,1 kg. Under hela försöksperioden ökade grisarna i medelvikt från 93,3 kg till 107,5 kg. De två sista veckorna före försökets början utfodrades grisarna med en foderblandning bestående av kasein, majsstärkelse och socker. Grisarna var försedda med en post-valve T-caecum (PVTC) fistel i slutet på ileum. Med denna fistel ersätts caecum och när fisteln är stängd flödar digestan direkt ner i colon (van Leeuwen *et al.*, 1991). Grisarna tvättades och smörjdes in dagligen med zinkpasta kring fisteln för att undvika hudirritation.

#### *Försöksdesign, foder och utfodring*

Försöket utformades enligt en så kallad change-over studie där varje individ jämfördes med sig själv under 2 perioder. Varje period var 14 dagar lång. Träckprover samlades dag 8-11 och tarmuppsamling skedde dag 9, 12 och 14 i varje period.

De två hösilagen som användes utfodrades tillsammans med en basfoderblandning (tabell 7) och vatten. Utfodring skedde vid 2 tillfällen per dag, kl. 7.30 och kl. 15.30 och fodergivan delades lika mellan utfodringarna. Under försöket hölls grisarna i individuella boxar med gummimattor att ligga på och leksaker av hårdplast och metall. Grisarna hade inte tillgång till halm under försöket. Grisarna tilläts dagligen att springa fritt i stallgången under ca 5 min.

**Tabell 7.** Grundfoderstaternas sammansättning i % ts och g foder per dag

<b>Fodermedel</b>	Foder 1, % av ts	Foder 2, % av ts	Foder 1, g per dag	Foder 2, g per dag
Slättervallshösilage	30	0	1040	0
Betesvallshösilage	0	30	0	950
Majsstärkelse	37	37	890	890

Socker	18,9	18,9	454	454
Kasein	8,6	8,6	207	207
Olja	4	4	96	96
Vitamin & mineralpremix	1,4	1,4	33,6	33,6
Titaniumoxid <sup>1</sup>	0,14	0,14	0,34	0,34

<sup>1</sup>TiO<sub>2</sub> var tillsatt som markör för att mäta smältbarheten, detta hanns dock aldrig med.

#### *Uppsamling av träck, digesta och foderrester*

Träckprover samlades 2 gånger per dag, dag 8-11 i varje period. För att få representativa prover samlades ca hälften av det som låg på golvet i boxen upp vid varje tillfälle. Digesta samlades från fisteln under en timme åt gången. Dag 9 i varje period gjordes två uppsamlingar, en kl. 8.30-9.30 och en kl. 14.00-15.00. Dag 12 skedde uppsamlingen av digesta kl. 8.00-9.00, 10.00-11.00, 12.00-13.00 och 14.00-15.00. Dag 14 skedde uppsamlingen av digesta kl 9.00-10.00, 11.00-12.00, 13.00-14.00 och 15.00-16.00 Under uppsamlingsperioderna gick grisarna fritt i sina boxar. Digestan samlades i en smal plastpåse fäst i ett rör som fördes in i fisteln och fästes med en plastklämma. Dygnsprover av träck och tarminnehåll slogs samman till periodvisa samlingsprov och förvarades vid -20°C. Proverna som samlades dag 9 förvarades i separata burkar även de vid -20°C. Samtliga grisar lämnade dagligen foderrester vilka sparades vid -20°C för att sedan vägas och torkas vid 60°C under 24 timmar.

Tarmproverna som samlades dag 9 i varje period användes enbart för T-RFLP-analys och pH-mätning. Tarmprover som samlades dag 12 och 14 under varje period slogs samman till ett prov och användes i samtliga analyser. Alla djuren var friska under försöken.

### **Analyser**

#### *pH*

För bestämning av pH-värdet i häst-träckprover pressades vätska ur träcken. I denna mättes sedan pH-värdet med en pH-meter (Ciba Corning, Minnesota USA). Efter upptining mättes pH-värdet i proverna från gris med en liknande pH-meter (Mettler Toledo MP125, Pittsburgh USA). Båda pH-metrarna kalibrerades före mätning med två buffertvätskor. Gisträcken blandades före mätning med avjoniserat vatten. Samtliga mätningar utom de för häst period I utfördes 3 gånger per prov och ett medelvärde av dessa räknades sedan ut och användes. Detta för att få ett säkert resultat då pH-värdet i samma prov visade sig variera ibland så mycket som flera tiondels enheter inom loppet av några minuter.

#### *Ts-bestämning*

Träckproverna från varje gris och period blandades samman, vägdes, frystorkades och vägdes igen för bestämning av ts-halten. Träckproverna från hästarna blandades samman inom häst och period och ett delprov togs ut och torkades vid 60°C under 24 h.

#### *T-RFLP*

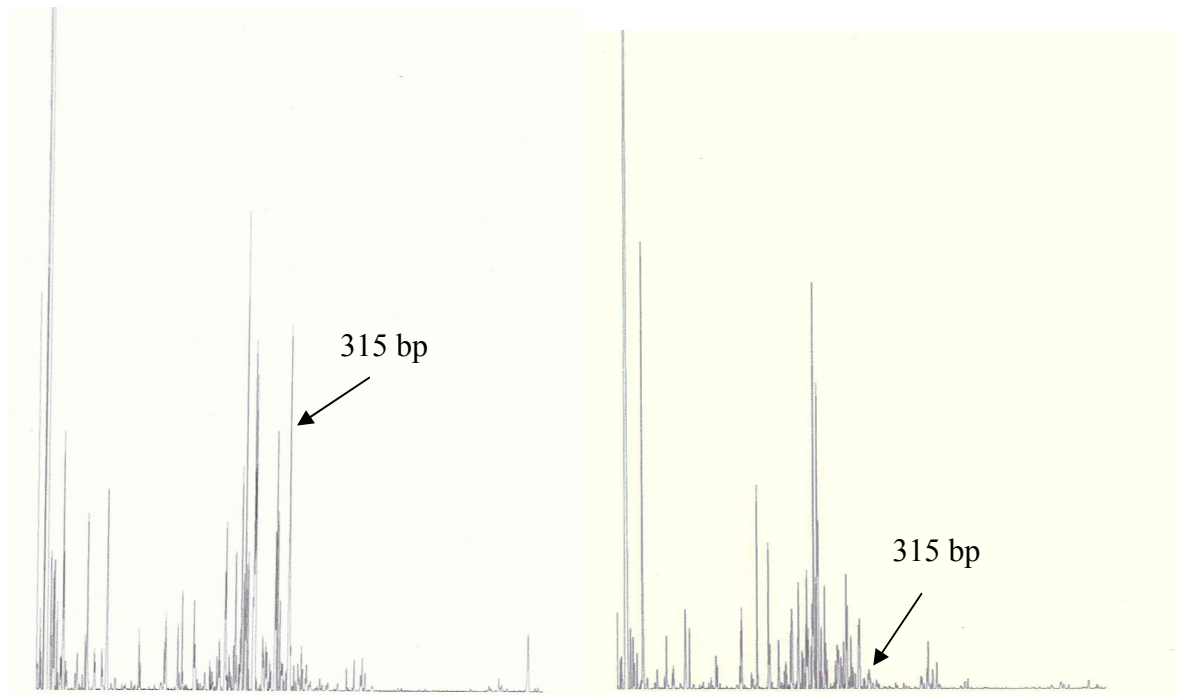
Träckprover och tarminnehåll förvarades i plastpåsar och hinkar i -20°C till dess att analysen utfördes. Proverna analyserades med T-RFLP-metodik (Terminal Restriction Fragment Length Polymorphism). Den går ut på att man isolerar DNA och därefter PCR-förökas generna som kodar för 16S rRNA (16S rDNA) hos alla bakterier i provet. Det förökade DNA-fragmentet blir märkt med en fluorescerande markör. Efter detta klyvs fragmentet med ett restriktionsenzym som klyver 16S rDNA fragment från olika bakterier på olika ställen. De

kluvna fragmenten separeras och storleksbestäms med hjälp av kapillärelektrofores i en sekvenseringsmaskin. Beroende på de olika fragmentens storlek kan man sedan få en bild av variationen i de olika bakteriearterna som ingick i provet.

För isolering av DNA från träck användes QIAamp DNA Stool Mini Kit (QIAGEN, Tyskland). Ca 200 mg av de frusna proverna vägdes upp och användes för DNA extraktionen enligt instruktionerna från tillverkaren. Kontroll av extraherat DNA gjordes med en agarosgel-elektrofores. Från DNA-preparationerna amplifierades (uppförökades) sedan 16S rRNA gener med två generella primers, FAM-F8M (Fam-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG och 926R (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'). 16S rRNA-genen är en välkaraktäriserad gen och kan användas för identifiering av olika bakteriearter. Reaktionen utfördes i 0,2 ml rör med PuReTaq Ready-to-go PCR-kit (GE Healthcare, United Kingdom), 1 µl av varje primer och 1 µl PCR-produkt, totalt 25 µl i varje rör. I det första steget värmdes rören till 94 °C under 5 minuter för denaturering. Sen kördes 30 cykler om 94 °C i 40 s, 58 °C i 40 s, 72 °C i 60 s för att avslutas med 72 °C under 7 minuter.

PCR- produkterna klövs med restriktionsenzymet *HaeIII*. Enzymet fick verka vid 37 °C under 2 timmar. För att avgöra om restriktionsenzymet hade fungerat kördes samtliga prover i en elektrofores på en agaros-gel. Efter att ha spätt ut 10 gånger skickades proverna till Rudbeckslaboratoriet (Uppsala universitet) för separation och detektion med hjälp av en sekvenseringsmaskin (ABI Prism 3730 Genetic Analyzer). Resultaten presenteras i form av toppar vars storlek varierar med mängden av bakterier som representeras av toppen och deras placering på linjen avgörs av antalet baspar, dvs. var restriktionsenzymet kluvit 16S rDNA fragmentet. Materialet bearbetades i en matris och sorterades upp efter djurslag och individ. För att få en säkrare bedömning slogs vissa storlekar i hop då de kunde antas att de hamnat på olika rader på grund av avrundningsfel. Detta var ett försök att minska effekten av en känd svaghet hos metoden.

Djurens T-RFLP-mönster bedömdes manuellt per individ. Två exempel på hur TRFLP-mönstren som bedömdes kunde se ut finns i figur 1. De är från samma häst under period I och II. Främst söktes efter tydliga trender som kunde kopplas till de olika fodren. Det gjordes även en sammanställning av antalet toppar under varje period och foder för att kunna urskilja ett eventuellt samband. De toppar där en skillnad mellan fodren hade kunnat antydades analyserades sedan statistiskt för kontroll av resultatens signifikans. Med hjälp av Ribosomal Database Project II (Michigan State University) nätbaserade analysprogram kunde en presentation av möjliga arter sammanställas från de basparslängder som visade signifikanta skillnader mellan foder eller period.



a) Slåttervallsfoderstat

b) betesvallsfoderstat

**Figur 1.** Exempel på TRFLP-mönster från hästräck i storlekarna 0-500 baspar.

### Statistisk bearbetning

För att bestämma signifikansnivån på pH-mätningar, ts-värden och T-RFLP-toppar användes variansanalys (SAS 9,1 och GLM-proceduren). Signifikansnivån för skillnader mellan prover sattes till  $P < 0,05$ .

Modellen som användes för resultaten av Häststudien var:  $Y_{ijk} = \mu + a_i + b_{ij} + g_{ijk} + e_{ijkl}$ .

Till resultaten från träckproverna i Grisstudien användes istället en modell som även tog hänsyn till periodeffekter:  $Y_{ijk} = \mu + a_i + b_{ij} + g_{ijk} + h_{ijkl} + e_{ijklm}$ . Tarmproverna i grisstudien uppsamlades två gånger per period och till dessa användes en modell där dag var nästad inom period:  $Y_{ijk} = \mu + a_i + b_{ij} + g_{ijk} + h_{ijkl} + gh_{ijkl} + e_{ijklm}$ .

$Y$  = observerat värde

$\mu$  = medelvärde av parametern

$a_i$  = effekt av djur

$b_{ij}$  = effekt av diet

$g_{ijk}$  = effekt av dag

$h_{ijkl}$  = effekt av period

$gh_{ijkl}$  = effekt av dag inom period

$e_{ijkl} / e_{ijklm}$  = residualeffekt

## Resultat

### Häststudie

Period II dag 16 lämnade en häst större delen av sitt tillskottsfoder (betfor, fosforbalans och NaCl) i krubban och träckprovet samlat denna dag uteslöts därför ur analysen.

#### *Foderintag*

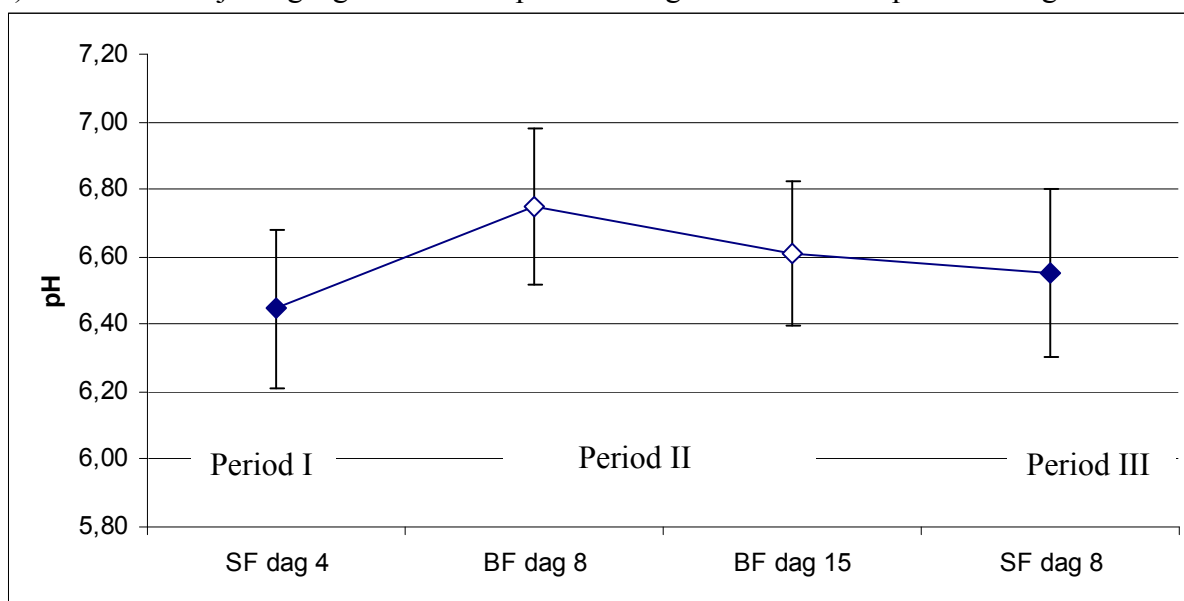
Hästarna lämnade hösilage främst under period I och III. Hästarnas genomsnittliga konsumtion under de tre uppsamlingsdagarna samt dagen innan räknades ut och sammanställdes som medelfoderstater för alla hästar under de tre uppsamlingsdagarna. Från medelfoderstaterna beräknades sedan ett genomsnittligt dagligt intag per 500 kg häst av råprotein, NDF, ADF, WSC och stärkelse ut (tabell 8).

**Tabell 8.** Intag av råprotein, NDF, ADF, WSC och stärkelse per 500 kg häst  $\pm$  standardavvikelse

Kg / dag	Slåttervallsfoderstat per I	Betesvallsfoderstat per II	Slåttervallsfoderstat per III
Råprotein	1,48 $\pm$ 1,32	1,29 $\pm$ 1,18	1,44 $\pm$ 1,30
NDF	4,31 $\pm$ 2,39	4,55 $\pm$ 2,21	4,77 $\pm$ 2,36
ADF	3,31 $\pm$ 1,96	2,93 $\pm$ 1,78	3,03 $\pm$ 1,88
WSC	1,14 $\pm$ 1,16	0,91 $\pm$ 0,99	1,24 $\pm$ 1,21
Stärkelse	0,78 $\pm$ 0,96	-	1,03 $\pm$ 1,10

#### *pH-värde i träck och tarmprover*

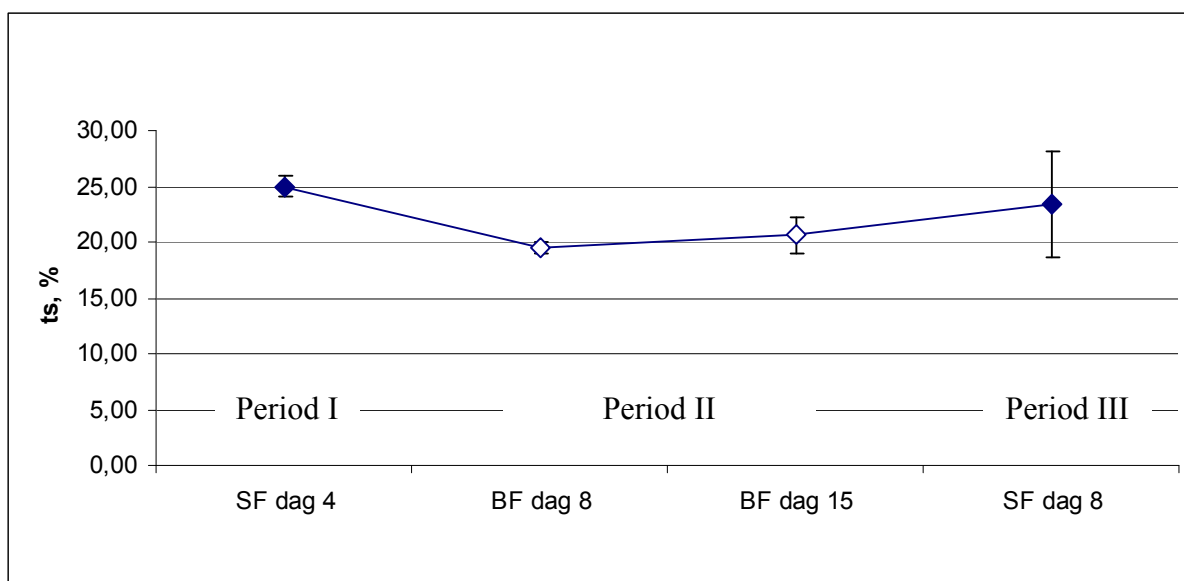
I hästarnas träck skilde pH-värdet signifikant ( $p < 0,05$ ) mellan fodren period I och II (figur 2). Period III skiljde sig signifikant från period II dag 8 men inte från period II dag 15.



**Figur 2.** pH-värden uppmätta i träcken från 7 hästar på en foderstat med slåttervallshösilaget (SF) och en foderstat med betesvallshösilaget (BF). Ofyllda markörer är signifikant skilda från SF dag 4.

#### *Torrsubstanshalt i träck*

Torrsubstansen i hästarnas träck visade också signifikanta ( $p < 0,05$ ) skillnader mellan perioder (figur 3). I period 2 var ts-halten ca 20 % lägre jämfört med period I och ca 15 % lägre jämfört med period III.



**Figur 3.** För-torrsubstanshalt i den färskna träcken från 7 hästar mätt genom torkning vid 60°C under 24 h. Foderstat med slåttervallshösilaget (SF) och foderstat med betesvallshösilaget (BF). Ofyllda markörer är signifikant skilda från SF dag 4.

## Grisstudie

### Foderintag

Samtliga grisar lämnade dagligen foderrester som antogs bestå enbart av hösilage. I genomsnitt konsumerade grisarna  $274 \pm 113$  g för-ts av slåttervallshösilaget och  $262 \pm 101$  g för-ts av betesvallshösilaget. Under period I var den genomsnittliga konsumtionen av båda hösilagen  $249 \pm 120$  g för-ts och under period II var motsvarande siffra  $287 \pm 89$  g. De från början tänkta mängderna av hösilage per dag minskades under försökets andra period ner då grisarna bara åt en liten del av det som utfodrades och det blev brist på hösilage, dock aldrig till en mindre mängd än vad grisarna förväntades vilja äta. Även med de nya mindre mängderna lämnade samtliga grisar foderrester. De nya, mindre tilldelade mängderna blev för slåttervallshösilaget, 660 g per dag under försökets 2 sista dagar och för betesvallshösilaget, 530 g under hela period II.

### pH-värde i träck och tarmprover

En signifikant ( $p < 0,05$ ) skillnad observerades i fekalt pH-värde. Vid SF var medelvärdet för alla grisar  $5,79 \pm 0,14$  och för BF,  $6,26 \pm 0,36$ . Även i tarmproverna från grisarnas fistlar mättes pH-värdet men där fanns inga signifikanta skillnader mellan fodren. I genomsnitt var pH-värdet som uppmättes i tarmproverna  $8,01 \pm 0,39$  vid utfodring med slåttervallshösilaget och  $7,88 \pm 0,42$  vid utfodring med betesvallshösilaget.

### Torrsubstanshalt i träck

I träcken fanns en skillnad som visade tendens ( $p < 0,1$ ) till en lägre torrsubstans vid utfodring med betesvallshösilaget jämfört med slåttervallshösilaget. Medelvärdet för alla grisar var vid utfodring med slåttervallshösilaget,  $31,0 \pm 3,9$  % ts och med betesvallshösilaget,  $26,6 \pm 1,4$  % ts.

## Mikrobiologiska analyser



### *T-RFLP profiler*

T-RFLP detekterade TRFer mellan 31 och 454 baspars (bp) storlek i träckprover från häst och mellan 32 och 425 bp storlek i träckprover från gris. I tarmproverna från gris detekterades fragment med storlekar mellan 32 och 489 bp. Dock fanns det då bara en topp på 489 bp och dessförinnan var den största toppen 416 bp. Resultaten visade en stor variation mellan olika individer. Ett prov visade stor avvikelse från övrigas mönster och för att undvika okända felkällor byttes provet ut mot en variant som var utspädd 5 gånger istället för 10 som var sparad som reserv.

De toppar som återfanns hos minst 5 av hästarna och minst 3 av grisarna oavsett foder finns sammanställda i bilaga B. Varje foder har en kolumn där antalet toppar som fanns där är summerade. Resultaten från hästproverna kommer från 3 perioder och 4 olika mätningar, 2 per foder. Antalet toppar som maximalt kan finnas för ett foder är därför 14 om alla 7 hästarna hade en topp under de båda mättillfällen då det fodret användes. Resultaten från grisproverna baserar sig på 4 individer och 2 perioder och ett foder kan därför ha maximalt 4 toppar. I sista kolumnen i respektive tabellavsnitt syns skillnaden i antalet toppar mellan fodren. Detta är för att förtydiga vilka toppar som kan ha påverkats av fodret och vilka toppar som troligtvis inte gjort det. Ju större skillnad, desto större sannolikhet för påverkan av foder.

I tabell 9 och 10 finns de toppar uppräknade där skillnader har kunnat observeras som trender kopplade till foder. För de toppar som finns med här har minst 4 av hästarna eller 3 av grisarna visat liknande tendenser.

**Tabell 9.** Observerade trender i T-RFLP mönstret i hästräcken

Storlek (antal baspar)	Observerad trend för topparna vid utfodring med betesvallshösilaget
31	Ökar
81	Minskar
177	Minskar/försvinner
228	Ökar
242	Ökar
248	Minskar/försvinner
254	Ökar
308	Tillkommer/ökar

**Tabell 10.** Observerade trender i T-RFLP mönstret i gristräcken

Storlek (antal baspar)	Observerad trend för topparna vid utfodring med betesvallshösilaget
33	Minskar
37	Tillkommer
258	Minskar
260	Minskar/försvinner
262	Ökar/kommer
263	Minskar/försvinner
264	Minskar/försvinner
307	Tillkommer
316	Minskar
335	Tillkommer
407	Ökar
411	Försvinner

Av de basparslängder som finns uppräknade ovan visade följande signifikanta ( $p < 0,05$ ) skillnader mellan period eller foder.

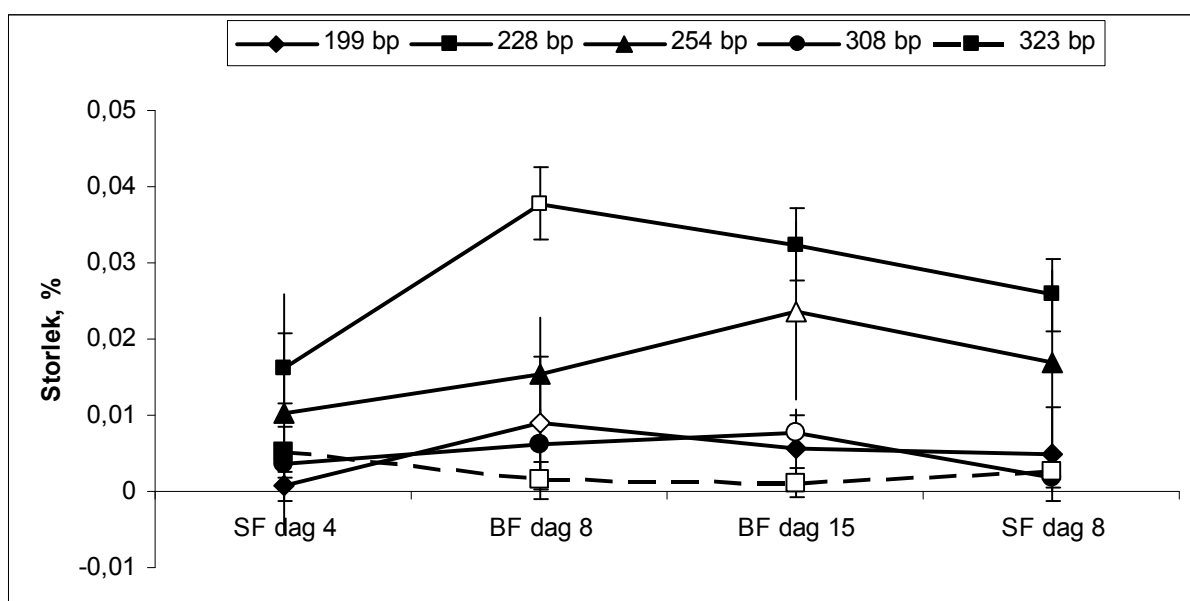
Häst, träckprover:

- 199 bp -Period II dag 8 skild från period I, period II dag 16 tendens mot signifikant skillnad mot period I, ingen skillnad mellan period I och III (figur 4).
- 228 bp -Period II dag 8 skild från period I, period II dag 16 tendens mot signifikant skillnad mot period I, ingen skillnad mellan period I och III (figur 4).
- 254 bp -Period II dag 16 skild från period I (figur 4).
- 308 bp -Period II dag 16 skild från period I och III (figur 4)
- 323 bp -Period II dag 8, II dag 16 och III skilda från period I (figur 4)

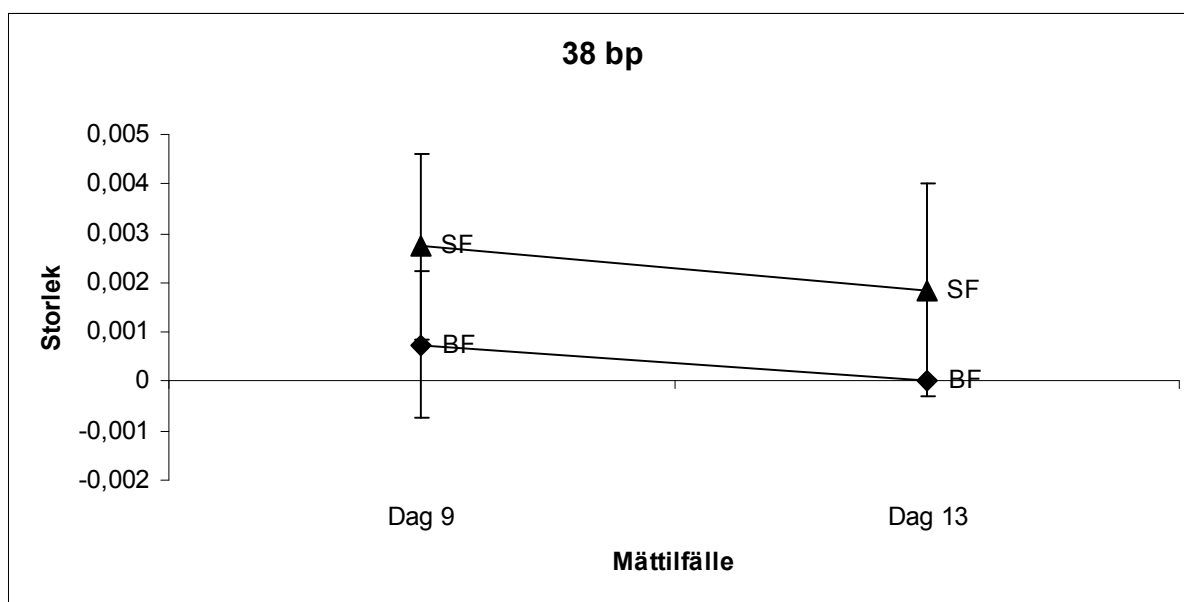
Gris, tarmprover:

- 38 bp -skillnad mellan foder 1 och foder 2 (figur 5)

Gris, träckprover: Inga signifikanta skillnader mellan foder, djur eller period.



**Figur 4.** Genomsnittliga storlek på topparna i % vid 199, 228, 254, 308 och 323 basparslängder i träckprov från häst på en slåttervallsfoderstat (SF) och en betesvallsfoderstat (BF). Ofyllda punkter är signifikant skilda från SF dag 4



**Figur 5.** Genomsnittlig storlek på topparna i % vid 38 basparslängder i tarmprov från gris på en slåttervallsfoderstat (SF) och en betesvallsfoderstat (BF).

#### Möjliga arter

Varje fragmentstorlek kan med hjälp av dataprogrammet Ribosomal Database Project II (Michigan State University) kopplas till ett antal kända arter. För de fragment där skillnaden i förekomst skiljer signifikant ( $p < 0,05$ ) är dessa arter sammanställda i bilaga C. För toppen vid 39 bp där tarmproverna från gris visade på en skillnad mellan foder fanns *Escherichia coli* som enda möjliga art.

## Diskussion

### Foderkonsumtion och fodermedel

Vid den botaniska analysen var det tydligt att det främst var den höga andelen maskros i betesvallshösilaget som skiljde mellan hösilagen. Harrington *et al* (2006) fann inga signifikanta skillnader mellan maskros och vitklöver/rajgräs vad det gäller innehållet av protein och ADF. Däremot hade maskros högre innehåll av zink, koppar, bor, magnesium, fosfor och natrium. I vår studie fanns dock tydliga skillnader mellan hösilagens innehåll av råprotein, energi och aska, som var högre i betesvallshösilaget, medan det hade lägre innehåll av ADF, NDF och lignin än slåttervallshösilaget. Detta kompenserades i häststudien genom användandet av betfor, sojamjöl, jäst, havre och lusern under period I och III. Vid analysen av dessa kraftfoderblandningar framkom en skillnad i stärkelsemängden som i period I var 16,4 % av ts och i period III var 21,3 % av ts. Detta beror troligtvis på variationer i havrepartiet och gör att hästarna under period III i genomsnitt får 250 g mer stärkelse per dag än under period I utslaget per 500 kg häst. Utslaget som ett medelvärde per 500 kg häst var det inga större skillnader mellan foderstaterna under studien. Analysvärdena som togs före studien skilde sig från de värden som erhöles under studiens gång och därför blev råproteinintaget något lägre på BF än SF. Eftersom foderstaterna var så lika blir det därför svårare att härleda de skillnader som observerades i fekalt pH-värde, ts i träck och mikrobiopopulationer direkt till det högre innehållet av protein och den lägre fiberandelen i betesvallshösilaget. Den ileala smältbarheten varierar dock mellan olika fodermedel och bland

annat soja och havre som bidrog till proteinintaget under period I och III har en hög ileal smältbarhet till skillnad från vallfoder och borde därför inte ha påverkat reaktionerna i grovtarmen i så stor utsträckning. Trots att det var ungefär samma fibermängd i båda foderstaterna kan det röra sig om helt olika fibertyper som påverkar fermentationen på olika sätt.

Grisarna som användes i studien var ovana vid att äta fiberrikt foder samt foder i så stora bitar som de vallfoder de utfodrades med. Konsumtionen var betydligt lägre än vad som tilldelades och med stora individuella variationer. Dock verkade det inte vara någon tydlig skillnad i konsumtionen mellan de båda försöksfodren. Trots det låga intaget av grovfoder ökade samtliga grisar i vikt under försöket. Hästarna lämnade mer foderrester under period I och III då de utfodrades med slåttervallshösilaget än under period II då betesvallshösilaget användes. Detta skulle t.ex. kunna bero på en lägre fiberandel eller en högre smaklighet i örtrika foder. Annars föredrar hästar i allmänhet ett grövre foder och väljer gräs till 90 % och bara 4 % örter (Björnhag, 1989). Arcer (1973) fann i sin studie att maskros, svartkämpe och rölleka var de få örter förutom gräs som hästar frivilligt betade några större mängder av.

### **Fekala pH-värden**

De pH-mätningar som gjordes på grisarnas tarminnehåll från slutet på ileum visade inga skillnader i pH-värdet. Detta betyder att den pH-ökning som sen skedde vid betesvallshösilaget jämfört med slåttervallshösilaget har skett i de efterföljande delarna av digestionskanalen dvs. colon, caecum och rektum. Troligt är att skillnaderna i de fekala pH-värdena beror på att de olika hösilagen gav upphov till olika mikrobiopopulationer i colon och caecum samt förändrade den mikrobiella aktiviteten. På grund av den högre smältbarheten och det lägre fiberinnehållet i betesvallshösilaget borde en ökad syraproduktion ha ägt rum under period II. För ett effektivt mikrobiellutnyttjande är lättfermenterade fibrer och god tillgång på kväve två viktiga delar. I betesvallshösilaget var fiberandelen lägre och proteinmängden högre. Detta är liknande de förhållanden som Connysson *et al.* (2006) rapporterade gav upphov till sänkta fekala pH-värden. Vid en lägre fiberandel och högre proteinmängd blir fodret mer lättfermenterat och mer flyktiga fettsyror (VFA) bildas i colon vilket ger upphov till en pH-sänkning. Trots detta gav betesvallshösilaget i den här studien högre pH-värden i träcken än slåttervallshösilaget med högre fiberandel och lägre proteinmängd. Det totala råproteinintaget var för hästarna lägre vid BF än SF, men för grisarna var det tvärtom mer protein i BF då basmixen i det försöket hela tiden var den samma och hösilaget var det enda som skilde dieterna åt. Andelen vamlös organisk substans visar tydligt att betesvallshösilaget var mer lättsmält än slåttervallshösilaget. Detta stärker teorin om en högre fermentering vilken borde ha visat sig som en ökad syraproduktion och därav ett lägre pH i grovtarmen. Att fallet var det omvända kanske skulle kunna förklaras med att betesvallshösilaget var så lättsmält att delar av det smältes redan i magsäcken och tunntarmen och därmed gick grovtarmsmikroberna miste om en del av substratet. Olika fibrer bryts ner på olika ställen i mag-tarmkanalen (Knudsen & Canibe, 2000) och fibertyp i hösilagen har därför troligtvis stor inverkan på mängden substrat i grovtarmen. Ytterligare en orsak till det högre fekala pH-värdet skulle kunna vara att betesvallshösilaget innehöll nästan dubbelt så mycket kalcium som slåttervallshösilaget. För att kompensera detta utfodrades lös foderkalk i SF. Kalcium som tas upp i tunntarmen och är känt för sin pH-höjande effekt borde ha varit mer lättillgängligt i form av foderkalk än bundet i hösilaget på BF. Därför kan mer kalcium ha passerat tunntarmen vidare till grovtarmen där det haft en buffrande verkan vid BF.

Det är också möjligt att den varierande stärkelsemängden i dieterna som användes till hästarna under period I och III kan ha påverkat de lägre pH-värdena i träcken som uppmättes då. Skillnader i fekala pH-värden mellan foder som en följd av olika mikrobiella populationsstrukturer finns beskrivna av Medina *et al.* (2002). I studien utfodrades hästar med 30 % stärkelse på ts-basis, 670 g per 100 kg kroppsvikt, och jämfördes med hästar som istället hade en hög andel fibrer i sin foderstat. Foderstaten med den höga stärkelsemängden gav då sänkta fekala pH-värden. Samtidigt observerades en ökning av laktobaciller och streptokocker i caecum och colon. Den mikrobiologiska analysen som gjordes i vår studie påvisade inga skillnader i mängden mjölksyrabakterier. Totalt fick hästarna som mest 206 g stärkelse per 100 kg kroppsvikt och dag, alltså drygt en tredjedel av vad som utfodrades i den tidigare nämnda studien. Enligt Kienzle (1994) kan hästar ta upp minst 2 g stärkelse per kg kroppsvikt i tunntarmen beroende på varifrån stärkelsen kommer, alltså minst 1000 g för en 500 kg häst. Det är därför rimligt att tro att den stärkelse som utfodrades under period I och III inte påverkade fermentationen i grovtarmen. För att den stärkelse som utfodras ska kunna påverka pH-värdet i träcken krävs att det är så stora mängder stärkelse som utfodras att allt inte kan tas upp i tunntarmen utan att en del går vidare till grovtarmen. Där sker en snabb fermentering med mjölksyra och ökad VFA-produktion som följd och därav ett sänkt pH-värde i grovtarmen och i träcken. I grisstudien utfodrades djuren med samma mängd basfoder under båda perioderna. Resultatet med höjda fekala pH-värden vid utfodring med betesvallshösilaget kan där ännu säkrare kopplas till hösilaget.

### **Ts-halter i träcken**

De observerade skillnaderna i ts-halter i gristäcken var inte signifikanta men visade en tendens till att vara det ( $p < 0,1$ ). Slåttervallshösilaget gav en för-ts-halt på  $31,0 \pm 3,93$  % och betesvallshösilaget på  $26,6 \pm 1,43$  %. En orsak till detta skulle kunna vara att grisarna konsumerade förhållandevis lite hösilage, ca 14 % av totala foderstaten på ts basis jämfört med hästarna där 57 - 99 % av foderstaten utgjordes av hösilage. Den numeriska skillnaden mellan grisfoderstaterna var dock i samma storleksordning som den som observerades hos hästarna. Den högre vätskemängden i hästräcken som observerades på betesvallsfoderstaten kan ha många orsaker. I den här studien samt i studien av Connysson *et al.* (2006) medförde det lägsta fiberintaget den högsta mängden vätska i träcken. Fibrer har en vattenhållande förmåga och det är möjligt att denna varierar med fibertyp och fibersammansättning.

Maskros är rik på nitrat och det kan leda till förgiftning hos idisslare när våmmikroberna reducerar nitrat till nitrit (Birnbreier, 1993). Tarmlevande bakterier, bland annat *E. coli* har förmåga att producera enzymet nitratreduktas som omvandlar nitrat till nitrit (McNamara *et al.*, 1971). Enkelmagade djur har inte alls samma kapacitet att reducera nitrat och rapporter om hästar förgiftade av nitrat saknas (Birnbreier, 1993). Kanske skulle en nitritförgiftning hos häst gå att upptäcka genom att mäta nitritnivåerna i träcken efter utfodring med ett nitratrikt foder. Till symptomen för nitratförgiftning hos idisslare hör lokal irritation av slemhinnan i mag-tarmkanalen (Birnbreier, 1993) och även detta skulle kunna orsaka en ökad vätskemängd i träcken. Maskros innehåller även bitterämnen som påstås ha en stimulerande effekt på matsmältningen (Gurib-Fakim, 2006). Detta skulle kunna orsaka en snabbare passagehastighet genom tarmen och ett minskat vätskeupptag. Smörblomma som det också fanns en del av i betesvallshösilaget är enligt Strandhede (2002) starkt slemhinneirriterande och även detta är något som skulle kunna orsaka en ökad vätskemängd i träcken. Det menas dock att giftet proteoanemin som är orsaken till detta bryts ner då växten torkas till hö eller ensileras. Osäkert är vad som gäller för betesvallshösilaget som inte var lika torrt som hö men

ändå för torrt för att någon egentlig fermentationsprocess som vid ensilering kan antas ha ägt rum.

### Mikrobiologisk profil

I fem av de T-RFLP-toppar från hästräcken som studerades noggrannare påvisades signifikanta skillnader mellan perioder. Detta tyder på att de två fodren påverkade den mikrobiologiska profilen i grovtarmen olika. Förslag på de olika bakteriearter som skulle kunna ge upphov till signifikanta skillnader finns uppräknade under resultat. Ingen av dessa är vanliga arter som diskuteras i sådana här sammanhang jämfört med till exempel laktobaciller och Ruminococcus-relaterade organismer. Ruminococcus återfinns i toppar vid 259 bp och 305 bp och sådana toppar syntes i proverna både från häst- och gristräck samt i tarmproverna från gris. Den relativa storleken skilde där inte mellan foder eller period. Vid fragmentsstorleken 199 baspar finns dock flera arter av släktet *Desulfovibrio* som är svavelreducerande bakterier (Shabir *et al.*, 2007). Dessa gynnades troligen av betesvallshösilaget som innehöll 2,5 g svavel per kg ts jämfört med slåttervallshösilaget som innehöll 1,5 g svavel per kg ts (tabell 3). Å andra sidan ingick i slåttervallsfoderstaten lusern som är rikt på svavel (4,2 g/kg ts) och även havre som innehåller ca 2,3 g / kg ts så i slutänden blev ändå foderstaterna relativt lika med avseende på svavelinnehåll. Det kan ändå vara så att svavlet i de olika foderstaterna hade olika tillgänglighet och därmed gav olika mängd svavel i grovtarmen.

I proverna som uttogs från gris var det endast ett tarmprov av de prover som studerades som uppvisade en signifikant skillnad i antalet *E. coli* bakterier mellan foder. Tre studier där tarmfloran undersökts hos gris har studerat vad som händer vid en ökad andel fibrer i fodret (Varel & Pound, 1985; Moore *et al.*, 1987; Castillo *et al.*, 2007). Samtliga fann en ändring i bakteriepopulationen vid ökad fiberandel. Då andelen lignin, ADF och NDF var lägre i betesvallshösilaget skulle resultatet kunna stämma överens med tidigare nämnda studier. Det som talar mot en sådan jämförelse är att båda hösilagen har en förhållandevis hög fiberandel jämfört med de foder som använts som kontroll vid tidigare studier samt att det förmodligen är mycket olika typer av fibrer då ingen av studierna använde sig av vallväxter. Castillo *et al.* (2007) utfodrade grisar med vetekli och kunde då konstatera att deras mikrobiopopulationer visade en mindre variation mellan individer än vid utfodring med betefibrer, majs, sojamjöl och korn. En hög andel fibrer till grisar ger alltså en mer likartad bakterieflora och detta skulle kunna förklara varför inga skillnader mellan foder kunde ses i T-RFLP-topparna som studerades från gristräcken. Hästar däremot har en mer utvecklad fibernedbrytning och har därför troligtvis fler bakteriearter specialiserade för detta. En ökad specialisering vid ett grovfoderbyte skulle därför kunna vara lättare att framkalla hos hästar än hos grisar.

Förutom att betesvallshösilaget innehöll mindre fibrer än slåttervallshösilaget innehöll det även mer protein. Detta sammantaget ger grovtarmsmikroberna ett mer lättfermenterat substrat att växa på och är en trolig orsak till de mikrobiologiska skillnaderna. Resultaten från pH-mätningarna antyder att förutom en förändrad mikrobiologisk profil så är det troligt att aktiviteten hos de bakterier som fanns i tarmen var olika för de två dieterna men visar på en lägre syraproduktion vid betesvallshösilaget.

Faktorerna som påverkar den mikrobiologiska profilen är många. Förutom foder spelar även individuella skillnader stor roll (Allison *et al.*, 1977). Kanske skulle därför fler djur än vad

som användes i den här studien behövas för att kunna dra säkra slutsatser om fodermedlens inverkan på mikrobiopopulationen.

## Litteraturförteckning

Allison, M. J., Robinson I. M., Bucklin, J. A. & Booth, G. D., 1979. *Comparison of bacterial populations of the pig cecum and colon based upon enumeration with specific energy sources*. Applied and Environmental Microbiology 37:1142-1151.

Archer, M., 1973. *The species preferences of grazing horses*. Journal of British Grassland Society 28:123-128.

Argenzio, R. A. & Southworth M., 1974. *Sites of organic acid production and absorption in gastrointestinal tract of the pig*. American Journal of Physiology 228:1043-1050.

Barnes, E. M., 1986. *Anaerobic bacteria of the normal intestinal microflora of animals*. I: Barnes, E. M. & Mead, G. C., *Anaerobic Bacteria in Habitats Other than Man*. Blackwell Scientific Publications, Oxford. s 225-238.

Berg, E. L., Fu, C. J., Porter, J. H. & Kerley M.S., 2005. *Fructooligosaccharide supplementation in the yearling horse: Effects on fecal pH, microbial content and volatile fatty acid concentrations*. Journal of Animal Science 83:1549-1553.

Birnbreier, E. & Hilliger, GH, 1993. *Tolerance concentrations for nitrate and nitrite in drinking water of cattle and sheep*. Übersichten-zur Tierernahrung 1:1-29.

Björnhag, G., 1989. *Hur växtätarna utnyttjar sin föda*. I Björnhag, G., Jonsson, E., Lindgren, E. & Malmfors, B., 1989. *Husdjur*. LTs förlag, Borås s 202-230.

Bonhomme-Floretin, A., 1988. *Degradation of hemicellulose and pectin by horse caecum contents*. British Journal of Nutrition, 60:185-192.

Campbell, J. M., Fahey Jr. G. C., & Wolf, B. W., 1997. *Selected Indigestible Oligosaccharides Affect Large Bowel Mass, Cecal and Fecal Short-Chain Fatty Acids, pH and Microflora in Rats*. The Journal of Nutrition 127: 130-136.

Castillo, M., Skene, G., Roca, M., Anguita, M., Badiola, I., Duncan, S. H., Flint, H. J. & Martin-Orúe, S. M., 2006. *Application of 16s r RNA gene targeted fluorescence in situ hybridization and restriction fragment length polymorphism to study porcine microbiota along the gastrointestinal tract in response to different sources of dietary fibre*. FEMS Microbiology Ecology 2007, 59:138-146.

Connysson, M., Muhonen, S., Lindberg, J-E., Essén Gustavsson, B., Nyman, G., Nostell, K. & Jansson, A., 2006. *Effects on exercise response, fluid and acid-base balance of protein intake from forage-only diets in standardbred horses*. Equine Veterinary Journal Supplement 36:648-53.

De Formbelle, A., Varloud, M. & Goachet, 2003. *Characterization of the microbial and biochemical profile of the different segments of the digestive tract in horses given two distinct diets*. Animal Science, 77:293-304.

Fiems, L. O., De Boever, J. L., De Vliegher A., Vanacker, J. M., De Brabander, D. L. & Carlter, L., 2004. *Agri.environmental grass hay: Nutritive value and intake in caparision with hay from intesivley managed grassland*. Archives of animal nutrition 58: 233-244.

Frape, D. L., 2004. *Equine nutrition & feeding, third edition*. Blackwell Publishing Ltd.

Gurib-Fakim, A., *Medicinal plants: traditions of yesterday and drugs of tomorrow*. Molecular Aspects of Medicine 27:1-93.

McNamara, A. L., Meeker, G. B., Shaw, P. D., & Hageman, R. H., 1971. *Use of a Dissimilatory Nitrate Reductase from Escherichia coZi and Formate as a Reductive System for Nitrate Assays*. Journal of Agriculture and Food Chemistry 19:229-231.

Harrington, K. C., Thatcher, A. & Kemp, P. D., 2006. *Mineral and nutritive value of some common pasture weeds*. New Zealand Plant Protection 59:261-265.

Hume, I. D., 1996. *Fermentation in the hindgut of Mammals*. I Mackie, R. I. & White, B. A., 1996. *Gastrointestinal microbes and host interactions, Volume 1*. Chapman & Hall, International Thomson publishing, United States of America. s 84-108.

Imoto, S. & Namioka, S., 1978. *VFA production in the large intestine*. Journal of Animal Science 47:467-468.

Jansson, A. mfl., 2004. *Utfodringsrekommendationer för häst*. Sveriges Lantbruksuniversitet publikationer.

Jonsson, E. & Conway P., 1992. *Probiotics for pigs*. I Fuller, R., 1992. *Probiotics*. Chapman & Hall publishing, London, Great Britain. s 260-316.

Julliand, V., De Fombelle, A., Drogoul C. & Jacotot, E., 2001. *Feeding and microbial disorders in horses: 3. Effects of three hay: grain ratios on microbial profile and activities*. Journal of Equine Veterinary Science, 21:543–546.

Kienzle, E., Radicke, S., Landes, E., Kleffken, D., Illenseer M., & Meyer, H., 1994. *Activity of amylase in the gastrointestinal tract of the horse*. Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition 72:234–241.

Knudsen, K.E.B. & Canibe, N., 2000. *Breakdown of plant carbohydrates in the digestive tract of pigs fed on wheat- or oat-based rolls*. Journal of the Science of Food and Agriculture 80:1253-1261.

Lindberg, Jan-Eric, 2007, professor Institutionen för Husdjurens Utfodring och Vård, Sveriges Lantbruksuniversitet. Föreläsning i kursen Vallfoders produktion och användning, 2007-04-18.



Louis, P., Scot, K. P., Duncan, S. H. & Flint, H. J., 2007. *Understanding the effects of diet on bacterial metabolism in the large intestine*. Journal of applied Microbiology 102:1197-1208.

Medina, B., Girard, I. D., Jacotot, E. & Julliand, V., 2002. *Effect of a preparation of saccharomyces cerevisiae on microbial profiles and fermentation patterns in the large intestine of horses fed a high fibre or a high starch diet*. Journal of Animal Science, 80:2600-2609.

Moore, W. E. C., Moore, L. V. H., Cato, E. P., Wilkins, T. D. & Kornegay, E. T., 1987. *Effect of High-Fibre and High-Oil Diets on the Fecal Flora of Swine*. Applied and Environmental Microbiology 53:1638-1644.

Rydén, M., 1990. *Den mångtydiga maskrosen*. Svensk Botanisk tidskrift 84:267-277.

Sjaastad, O. V., Hove, K. & Sand, O., 2003. *Physiology of domestic animals*. Scandinavian Veterinary Press, Oslo. s 551

Dar, S. A., Stams, A. J. M., J., Kuenen, J. G. & & Muyzer, G., 2007. *Co-existence of physiologically similar sulfate-reducing bacteria in a full-scale sulfidogenic bioreactor fed with a single organic electron donor*. Applied Microbiology and Biotechnology 75:1463-1472.

Shriver, J. A., Carter, S. D., Sutton, A. L., Richert, B. T., Senne, B. W. & Pettey, L. A., 2003. *Effects of adding fibre sources to reduced-crude protein, amino acid-supplemented diets on nitrogen excretion, growth performance and carcass traits of finishing pigs*. Journal of Animal Science 81:492-502.

Stewart, C. S., 1996. *Microorganisms in hindgut fermentors*. I: Mackie, R. I., White, B. A. & Isaacson, R. E., 1996. *Gastrointestinal microbes and host interactions*. Chapman & Hall, International Thomson publishing, United States of America. s 142-186.

Strandhede, S-O., 2002. *Farliga och ofarliga växter från A till Ö*. Blida Förlag, Stocholm.

Van Leeuwen, P., van Kleef, D., van Kempen, G. J. M., Huisman, J. & Verstegen, M. W. A., 1991. *The Post Valve T-Caecum cannulation technique in pigs applicated to determine the digestibility of amino acid in maize, groundnut and sunflower meal*. Journal of Animal Physiology and Nutrition 65:183-193.

Varel V. H. & Pound, W. G., 1985. *Enumeration and activity of cellolytic bacteria from gestating swine fed various levels of dietary fibre*. Applied and Environmental Microbiology 49:858-862.

## Bilaga A -Foderstater häststudien

Övergångsfoderstater mellan period I och II samt mellan period II och III:

	<u>Häst 1-6</u>	<u>Häst 7</u>
Hösilage 1	5 kg ts	6 kg ts
Hösilage 2	4 kg ts	4,8 kg ts
Havre	1 kg	1,2 kg
Betfor	0,5 kg	0,6 kg
Soja	0,3 kg	0,36 kg
NaCl	25 g	30 g

Utfodringstider och fördelning av fodergivan: Häst 1-6

	<u>Period I &amp; III</u>	<u>Period II</u>
Kl 07:00	2,5 kg hösilage 0,5 kg havre 0,75 kg betfor 0,37 kg soja 0,13 kg jäst 20 g Foderkalk 12,5 g NaCl 15 g Biomag	2,5 kg hösilage
Kl 12:30	1 kg havre 1 kg lusern	2,5 kg hösilage
Kl 17:00	2,5 kg hösilage 0,5 kg havre 0,75 kg betfor 0,37 kg soja 0,13 kg jäst 20 g Foderkalk 12,5 g NaCl 15 g Biomag	2,5 kg hösilage 0,1 kg betfor 33 g NaCl 40 g Fosforbalans

Häst 7: 20 % mer av allt vid varje tillfälle, annars lika.

**Bilaga B.** T-RFLP toppar som fanns i prov från träck hos minst 5 av hästarna eller 3 av grisarna uppdelade efter vilket foder djuren fick

Häst				Gris			
<i>Antal bp</i>	<i>Slåttervalls- hösilage</i>	<i>Betesvalls- hösilage</i>	Differens	<i>Antal bp</i>	<i>Slåttervalls- hösilage</i>	<i>Betesvalls- hösilage</i>	Differens
31	14	13	1	32	4	4	0
33	14	13	1	33	4	4	0
38	9	9	0	37	1	4	-3
51	14	14	0	50	4	4	0
60	3	5	-2	72	4	3	1
63	14	14	0	76	4	4	0
72	14	13	1	81	4	4	0
73	8	4	4	87	4	3	1
81	10	11	-1	149	4	4	0
87	14	14	0	161	3	2	1
98	9	6	3	181	2	4	-2
128	14	14	0	186	2	1	1
155	3	6	-3	191	4	3	1
161	9	12	-3	196	3	1	2
162	9	13	-4	199	2	2	0
177	11	8	3	207	2	4	-2
182	9	7	2	208	2	3	-1
197	13	14	-1	213	3	3	0
198	12	9	3	220	4	4	0
199	5	10	-5	221	3	2	1
210	13	13	0	235	4	4	0
218	3	5	-2	236	4	4	0
220	9	7	2	238	4	4	0
222	4	4	0	239	4	4	0
226	9	13	-4	252	1	3	-2
228	13	14	-1	253	3	1	2
229	7	3	4	254	3	3	0
235	9	6	3	255	2	2	0
236	14	14	0	256	2	2	0
238	5	2	3	258	4	4	0
241	12	11	1	260	3	3	0
242	9	13	-4	261	3	4	-1
246	10	11	-1	262	2	4	-2
247	5	10	-5	263	3	2	1
248	7	7	0	264	4	2	2
249	8	9	-1	270	2	1	1
250	6	5	1	271	4	4	0
253	3	8	-5	273	4	3	1
254	13	14	-1	274	1	2	-1
256	14	13	1	275	4	4	0
258	5	6	-1	280	4	4	0
259	14	14	0	285	2	3	-1
261	14	13	1	288	2	3	-1
262	14	12	2	296	3	2	1
265	8	5	3	298	3	2	1
266	5	6	-1	300	2	2	0
270	14	14	0	302	3	4	-1
272	14	13	1	303	3	4	-1

<b>273</b>	9	7	2	<b>305</b>	3	3	0
<b>274</b>	12	12	0	<b>307</b>	0	3	-3
<b>283</b>	5	2	3	<b>316</b>	4	4	0
<b>284</b>	4	4	0	<b>318</b>	4	4	0
<b>285</b>	5	3	2	<b>319</b>	2	3	-1
<b>287</b>	12	12	0	<b>325</b>	2	3	-1
<b>288</b>	7	9	-2	<b>327</b>	3	2	1
<b>289</b>	6	9	-3	<b>335</b>	0	3	-3
<b>299</b>	14	14	0	<b>369</b>	1	2	-1
<b>300</b>	14	14	0	<b>372</b>	1	2	-1
<b>302</b>	14	12	2	<b>375</b>	2	3	-1
<b>303</b>	6	5	1	<b>389</b>	2	3	-1
<b>305</b>	13	14	-1	<b>407</b>	3	4	-1
<b>307</b>	7	6	1	<b>411</b>	3	1	2
<b>308</b>	9	13	-4	<b>412</b>	4	3	1
<b>315</b>	7	10	-3				
<b>316</b>	14	14	0				
<b>318</b>	6	2	4				
<b>323</b>	11	4	7				
<b>328</b>	5	5	0				
<b>329</b>	6	7	-1				
<b>331</b>	5	3	2				
<b>339</b>	10	7	3				
<b>398</b>	8	8	0				
<b>406</b>	13	13	0				
<b>408</b>	9	10	-1				
<b>410</b>	5	2	3				
<b>412</b>	10	10	0				
<b>454</b>	5	7	-2				

**Bilaga C.** Bakteriearter som kan kopplas till de olika fragmentstorlekarna

Fragmentstorlek (bp)	Möjliga arter
38	<i>Escherichia coli</i>
199	<i>Desulfovibrio senezii</i> <i>Desulfovibrio gigas</i> <i>Clostridium sticklandii</i> <i>Desulfovibrio alcoholovorans</i> <i>Oxalobacter formigenes</i> <i>Desulfomonas pigra</i> <i>Desulfovibrio sp.</i>
228	<i>Rhodococcus coprophilus</i> <i>Microbacterium</i> <i>Aurebacterium kitamiense</i> <i>Micrococcus luteus</i> <i>Thermodesulfovibrio</i> <i>Dermatophilus congolensis</i> <i>Mycobacterium tuberculosis</i> <i>Brachyspira pilosicoli</i> <i>Micrococcus DD75</i> <i>Arcobacter nitrofigilis</i> <i>Saccharopolyspora hirsuta</i> <i>Mycobacterium bovis</i>
254	<i>Mycoplasma pneumoniae</i> <i>Mycoplasma gallisepticum</i> <i>Ectothiorhodospira</i> <i>Marismortui</i> <i>Clostridium thyrobutyricum</i> <i>Mycoplasma gallisepticum</i> <i>Clostridium ramosum</i> <i>Mycoplasma pirum</i> <i>Fibrobacter intestinalis</i> <i>Mycoplasma genitalium</i> <i>Cardiobacterium hominis</i> <i>Leucothrix mucor</i> <i>Mesoplasma entomophilum</i> <i>Campylobacter</i> <i>Clostridium ramosum</i> <i>Borrelia anserina</i>
308	<i>Bacillus subtilis</i> <i>Bacillus sphaericus</i> <i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i> <i>Sporohalobacter lortetii</i>
323	<i>Colwellia demingiae</i> <i>Marinomonas vaga</i> <i>Marinobacter SW51</i> <i>Colwellia psychroerythrea</i> <i>Anaeroflexus maritimus</i>



Nr	Titel och författare	År
251	Gradvis avvänjning av smågrisar Therese Rehn	2007
252	Inverkan av utfodringsnivå och miljö på reproduktion och hållbarhet hos rekryteringskvigor Lisbeth Johansson	2007
253	Peas as feed for dairy cows David Galméus	2008
254	Glycerol till mjölkcor – effekter på våmmetabolismen Glycerol to dairy cows – effects on the rumen metabolism Karin Kullberg	2008
255	Use of different management routines in order to minimize heat stress in Murrah buffaloes in hot and humid climate Malin Langenfors	2008
256	Tre träningsmetoder för att vänja hästar vid ett skrämmande stimulus Three training methods for horses, habituation to a frightening stimulus Kristina Olsson	2008
257	Assesement of temperamental traits in four year old Swedish Warmblood horses Ylva Höög	2008
258	Diet related changes in the gastrointestinal microbiota of horses Annamaria Vörös	2008
259	Drank som proteinkälla till Regnbågslax ( <i>Onchorhynchus mykiss</i> ) Markus Andersson	2008
260	Vad skulle få en lantbrukare att ställa om från konventionell till ekologisk mjölkproduktion Marie Sjölin	2008
261	Hur påverkas beteende/känslor och fysiologiska faktorer på människa och häst vid interaktion mellan parterna? How does interaction between humans and horses affect their behaviour/feelings and physiological parameters? Sophie Maurer	2008
262	Blodanalyser på slaktkycklingar – en metod för att mäta hälsa, välbefinnande och fysiologisk status? Blood analyses in broilers – a method for measuring health, well being and physiological status? Nina Konstenius	2008

I denna serie publiceras examensarbeten (motsvarande 15 eller 30 högskolepoäng) samt större enskilda arbeten (15-30 högskolepoäng) vid Institutionen för husdjurens utfodring och vård, Sveriges Lantbruksuniversitet. En förteckning över senast utgivna arbeten i denna serie återfinns sist i häftet. Dessa samt tidigare arbeten kan i mån av tillgång erhållas från institutionen.

---

**DISTRIBUTION:**  
**Sveriges Lantbruksuniversitet**  
**Institutionen för husdjurens utfodring och vård**  
**Box 7024**  
**750 07 UPPSALA**  
**Tel. 018-67 28 17**

---